

Flavonoid phosphate salts of aminoglycoside antibiotics

Patent Number: US4617293

Publication date: 1986-10-14

Inventor(s): WAHLIG HELMUT (DE); DINGELDEIN ELVIRA (DE); KIRCHLECHNER RICHARD (DE); ORTH DIETER (DE); ROGALSKI WERNER (DE)

Applicant(s):: MERCK PATENT GMBH (DE)

Requested Patent: EP0065123, B1

Application Number: US19840613131 19840523

Priority Number (s): DE19813118856 19810513; DE19823206725 19820225

IPC

Classification:

EC Classification: C07H15/20, C07H17/065

Equivalents: AU554041, AU8358182, CA1196628, DE3206725, ES8307097, HU189138, IL65749

Abstract

Flavonoid phosphates of aminoglycoside antibiotics are useful sparingly soluble salts, e.g., for achieving a depot effect.

Data supplied from the esp@cenet database - I2

Jc978 U.S. Pat. No.
10/084674
02/28/02



Europäisches Patentamt
European Patent Office
Office européen des brevets

⑪ Veröffentlichungsnummer:

0 065 123
A1

⑫

EUROPÄISCHE PATENTANMELDUNG

㉑ Anmeldenummer: 82103471.7

㉓ Int. Cl.³: C 07 H 15/20, C 07 H 17/06,
 A 61 K 31/70

㉒ Anmeldetag: 24.04.82

㉔ Priorität: 13.05.81 DE 3118856
 25.02.82 DE 3206725

㉕ Anmelder: Merck Patent Gesellschaft mit beschränkter
 Haftung, Frankfurter Strasse 250, D-6100 Darmstadt
 (DE)

㉖ Veröffentlichungstag der Anmeldung: 24.11.82
 Patentblatt 82/47

㉗ Erfinder: Wahlig, Helmut, Dr., Roemheldweg 16,
 D-6100 Darmstadt (DE)
 Erfinder: Dingeldein, Elvira, Dr., Am Spaltenpfad 9,
 D-6072 Dreieich (DE)
 Erfinder: Kirchlechner, Richard, Dr., Im Ritterbruch 15,
 D-6146 Alsbach-Hähnlein 2 (DE)
 Erfinder: Orth, Dieter, Dr., Carl-Ulrichstrasse 35,
 D-6100 Darmstadt (DE)
 Erfinder: Rogalski, Werner, Dr., Rosengartenstrasse 15,
 D-6146 Alsbach (DE)

㉘ Benannte Vertragsstaaten: AT BE CH DE FR GB IT LI NL
 SE

㉙ Schwer lösliche Salze von Aminoglykosidantibiotika.

㉚ Neue schwer lösliche Flavanoidphosphate von Amino-glykosidantibiotika, insbesondere Hesperidinphosphate wie Gentamycin-hesperidinphosphat, bewirken eine langsame Freisetzung dieser Antibiotika.

EP 0 065 123 A1

- 1 -

0065123

Schwer lösliche Salze von Aminoglykosidantibiotika

Die Erfindung betrifft neue schwer lösliche Salze von Aminoglykosidantibiotika.

Aminoglykosidantibiotika wie Gentamycin oder Tobramycin
5 werden üblicherweise in Form ihrer Sulfate verwendet, die in Wasser leicht löslich sind. Die Antibiotika werden schnell aus ihnen freigesetzt und verteilen sich im Körper. Dieses Verhalten ist in manchen Fällen von Nachteil, wenn nämlich eine lokal begrenzte Infektion bekämpft
10 werden soll, z.B. ein infizierter Knochen. In diesen Fällen sind schwerer lösliche Salze erwünscht, aus denen das Antibiotikum langsamer freigesetzt wird und die daher eine gewisse Depotwirkung entfalten können.

Einige schwer lösliche Salze von Aminoglykosidantibiotika
15 sind bekannt. So sind z.B. in der US-PS 3 091 572 verschiedene schwer lösliche Salze des Gentamycins erwähnt (z.B.: Salze mit Fettsäuren, die 8 oder mehr C-Atome enthalten, wie Laurin-, Stearin-, Palmitin- oder Ölsäure, Aralkansäuren wie Phenylbuttersäure, Arylcabonsäuren wie
20 Naphthalin-1-carbonsäure, Schwefel- und Sulfonsäuren wie Laurylschwefelsäure, Dodecylbenzolsulfonsäure).

Es hat sich gezeigt, daß diese Salze bei ihrer Anwendung gewisse Nachteile aufweisen. So zeigen sie eine wachsartige, deutlich hydrophobe Beschaffenheit, die ihre
25 galenische Verarbeitung erschwert.

Der Erfindung lag die Aufgabe zugrunde, neue Salze von Antibiotika aufzufinden, die schwer löslich sind und

- 2 -

0065123

die die nachteiligen Eigenschaften der bekannten Antibiotika-Salze nicht oder nur in geringerem Ausmaß aufweisen. Diese Aufgabe wurde durch die Bereitstellung der neuen Salze gelöst.

5 Es wurde gefunden, daß eine langsamere Freisetzung der Antibiotika erzielt werden kann, wenn man an Stelle der genannte Sulfate oder anderer leichtlöslicher Salze die schwer löslichen Flavanoidphosphate, insbesondere die Hesperidinphosphate der Aminoglykosidantibiotika einsetzt.
10

Gegenstand der Erfindung sind dementsprechend die Flavanoidphosphate, insbesondere die Hesperidinphosphate von Aminoglykosidantibiotika.

Als anionische Komponenten der erfindungsgemäßen
15 Salze eignen sich saure Phosphorsäureester von Hydroxyflavonoiden, z.B. von Hydroxy-flavanen, -flavonen, -flavanonen, -flavonolen oder -flavyliumsalzen. Die Flavanon- und Flavonderivate sind bevorzugt.

Dabei können die Hydroxyflavanoide eine oder mehrere, z.B. 1,2,3,4,5,6 oder 7, vorzugsweise 1,2,3 oder 4, Hydroxygruppen enthalten, die vorzugsweise phenolischer Art sind, aber auch alkoholischer Art sein können. Sie stehen in der Regel in 3-, 5-, 6-, 7-, 3'- und/ oder 4'-Stellung des Flavansystems, können aber auch in 4-, 8-, 2'-, 5'- oder 6'-Stellung stehen. Bevorzugt sind die 3'- und die 5-Stellung. Von den Hydroxygruppen können eine oder mehrere mit Phosphorsäure verestert sein. So können z.B. der 3'- und der 5-Mono-phosphorsäureester sowie der 3',5 -Diphosphorsäure-esther des Hesperidins als Salzbildungskomponenten
30

- 3 -

0065123

verwendet werden. Der Ausdruck "Hesperidinphosphorsäure" soll sich im folgenden auf den 3',5--Diphosphorsäureester beziehen, der Ausdruck "Hesperidinphosphate" auf die davon abgeleiteten Salze.

- 5 Außer den phosphorylierten und freien OH-Gruppen können die Flavanoidphosphorsäuren weitere Substituenten tragen, z.B. veretherte OH-Gruppen wie Alkoxygruppen mit vorzugsweise 1 - 4 C-Atomen, vor allem Methoxygruppen (in der Regel nicht mehr als drei, vorzugsweise eine, bevorzugt in der 4'-Stellung, aber auch in der 3-, 3'-, 5-, 6- und/oder 7-Stellung), sowie insbesondere glykosidierte OH-Gruppen. Diese können mit Mono-, Di-, Tri- oder Tetrasacchariden glykosidiert sein.
10 Als Glykosid-komponenten bevorzugt sind Monosaccharide wie D-Glucose, ferner D-Galactose, D-Glucuronsäure, D-Galacturonsäure, D-Xylose, D-Apiose, L-Rhamnose und L-Arabinose, sowie Disaccharide wie Rhamnosylglucosen, besonders bevorzugt Rutinose und Neohesperidose, ferner z.B. Rungiose, Robinobiose, Sophorose, Gentiobiose,
15 Apiose, Vicianose, Sambubiose, Primveroase oder Latyrose. Glykosidierte OH-Gruppen stehen vorzugsweise in 7-und/oder 3-Stellung; in der Regel sind höchstens 2, vorzugsweise eine glykosidierte OH-Gruppe im Molekül der Flavanoidphosphorsäure vorhanden. Weitere mögliche
20 Substituenten (in der Regel nicht mehr als 3, vorzugsweise nur einer) sind z.B. Alkyl mit z.B. 1 - 4 C-Atomen, vorzugsweise Methyl, Halogen, vorzugsweise F oder Cl, Hydroxyalkoxy mit z.B. 1 - 4 C-Atomen, vorzugsweise 2-Hydroxyethoxy.
25 Als Flavanoidphosphate eignen sich im einzelnen z.B. saure Phosphorsäureester von Hydroxyflavanen wie
30

- 4 -

0065123

6-Hydroxy-4'-methoxyflavan, 6-Hydroxy-3,4'-dimethoxyflavan, 6-Hydroxy-4'-methoxy-3-methyl-flavan, Catechin ((+)-3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavan), Leucocianidol (3,3',4,4',5,7-Hexahydroxyflavan), und deren Glykosiden wie 2,3,3'4,4',5,7-Heptahydroxyflavanglucosid; Hydroxyflayanonen wie Liquiritigenin (4',7-Dihydroxyflavanon), Pinocembrin (Dihydrochrysin, 5,7-Dihydroxyflavanon), Naringenin (4',5,7-Trihydroxyflavanon), Eriodictyol (3',4',5,7-Tetrahydroxyflavanon), Dihydroquercetin (Taxifolin, 3,3',4',5,7-Pentahydroxyflavanon), 6-Hydroxy-4'-methoxy-flavanon, Sakuranetin (4'5-Dihydroxy-7-methoxy-flavanon), Isosakuranetin (5,7-Dihydroxy-4'-methoxy-flavanon), Hesperetin (3',5,7-Trihydroxy-4'-methoxyflavanon), Silibinin (2-trans-2-(4-Hydroxy-3-methoxyphenyl)-3-hydroxymethyl-1,4-benzodioxan-6-y¹⁷-3,5,7-trihydroxychroman-4-on), und deren Glykosiden wie Pinocembrin-7-rutinosid, Sarothanosid (Pinocembrin-7-neohesperidosid), Salipurposid (Naringenin-5-glucosid), Prunin(Naringenin-7-glucosid), Narirutin (Naringenin-7-rutinosid), Naringin (Naringenin-7-neohesperidosid), Eriodictin (Eriodictyol-7-rhamnosid), Eriocitrin (Eriodictyol-7-rutinosid), Eriodictyol-7-neohesperi-dosid, Didymin (Isosakuranetin-7-rutinosid), Poncirus (Isosakuranetin-7-neohesperidosid), Persicosid (Hesperitin-glucosid), Hesperidin (Hesperetin-7-rutinosid), Neohesperidin (Hesperetin-7-neohesperidosid); Hydroxyflavonen wie Chrysin (5,7-Dihydroxyflavon), Primetin (5,8-Dihydroxyflavon), Galangin (3,5,7-Trihydroxyflavon), Baicalein (5,6,7-Trihydroxyflavon), Apigenin (4',5,7-Trihydroxyflavon), Datisketin (2',3,5,7-Tetrahydroxyflavon), Lotoflavin (2',4',5,7-Tetrahydroxyflavon), Kämpferol (3,4',5,7-Tetrahydroxyflavon), Fisetin (3,3',4',7-Tetrahydroxyflavon), Luteolin (3',4',5,7-Tetrahydroxyflavon), Scutellarein

- 5 -

0065123

(4',5,6,7-Tetrahydroxyflavon), Morin (2',4,4',5,7-Pentahydroxyflavon), Robinetin (3,3',4',5',7-Penta-hydroxyflavon), Quercetin (3,3',4',5,7-Pentahydroxy-flavon), Tectochrysin (5-Hydroxy-7-methoxyflavon),
5 Genkwanin (4',5-Dihydroxy-7-methoxyflavon), Acacetin (5,7-Dihydroxy-4'-methoxyflavon), Diosmetin (3',5,7-Trihydroxy-4'-methoxyflavon), Chrysoeriol (4',5,7-Tri-hydroxy-3'-methoxyflavon), Rhamnetin (3,3',4',5-Tetrahydroxy-7-methoxyflavon), Isorhamnetin (3,4',5,7-
10 Tetrahydroxy-3'-methoxyflavon), Chlorflavonin (3'-Chlor-2',5-dihydroxy-3,7,8-trimethoxyflavon), Eupatorin (3',5-Dihydroxy-4',6,7-trimethoxyflavon) und deren Glykosiden wie Chrysin-7-rutinosid, Chrysin-7-neohesperidosid, Apolin (Apigenin-7-apiosylglucosid), Rhoifolin
15 (Apigenin-7-neohesperidosid), Isorhoifolin (Apigenin-7-rutinosid), Nicotiflorin (Kämpferol-3-rutinosid), Lespedin (Kämpferol-3,7-dirhamnosid), Robinin (Kämpferol-3-robinosid-7-rhamnosid), Scolymosid (Lonicerin, Luteolin-7-rutinosid), Veronicastrosid (Luteolin-7-neohesperidosid), Quercitrin (Quercetin-3-rhamnosid), Isoquercitrin (Quercetin-3-glucosid), Hyperosid (Quercetin-3-galactosid), Rutosid (Rutin, Quercetin-3-rutinosid), 6-Hydroxymethylrutosid, Monoxerutin
20 7-(2-Hydroxyethyl)-rutosid, Ethoxazorutosid
4'-O-(2-Morpholinoethyl)-rutosid, Troxerutin
3',4',7-Tris-(2-hydroxyethyl)-rutosid, Acaciin (Linarin, Acacetin-7-rutinosid), Fortunellin (Acacetin-7-neohesperidosid), Diosmin (Diosmetin-7-rutinosid), Neodiosmin (Diosmetin-7-neohesperidosid), Narcissin
25 (Isorhamnetin-3-rutinosid); Hydroxyflavyliumsalzen wie Cyanidin, und deren Glykosiden wie Keracyanin (Cyani-din-3-rutinosid).

- 6 -

0065123

- Als Aminoglykosidantibiotika kommen insbesondere die-jenigen in Betracht, die eine Desoxystreptamin-Einheit enthalten. Im einzelnen sind besonders bevorzugt Amikacin, Dibekacin, Gentamycin, Neomycine, Paromomycin, Sagamycin, 5 Sisomicin, Streptomycin und Tobramycin, weiterhin sind z.B. bevorzugt Allomycin, Amicetin, Apramycin, Bekanamycin, Betamicin, Butirosin, Destomycin, Everninomycine, Ezomycine, Flambamycin, Fortimycin A und B, Framycetin, Hikizimycin, Homomycin, Hybrimycin, Hygromycin, Kanamycine, 10 Kasugamycin, Lividomycin, Minosaminomycin, Myomycine, Netilmicin, Parvulomycin, Puromycin A, Ribostamycin, Rimocidin, Ristomycin, Ristosamin, Seldomycine, Sorbistin, Spectinomycin, Streptothricin, Tunicamycin und Verdamycin sowie deren Epimeren und Derivate, soweit sie basisch sind.
15. Da einige dieser Antibiotika, z.B. Gentamycin, bekanntlich keine einheitlichen Substanzen sind, sondern Gemische (Gentamycin z.B. ein Gemisch der Verbindungen Gentamycin C 1, Gentamycin C 2 und Gentamycin C 1a) darstellen, sind auch die Flavanoidphosphate in einzelnen 20 Fällen keine einheitlichen Substanzen, sondern Gemische. Da außerdem viele der genannten Antibiotika, z.B. alle Gentamycine, mehrere basische Stickstoffatome enthalten und da andererseits Flavanoidphosphorsäuren wie Hesperidinphosphorsäure mehrbasige Säuren sind, ist es außerdem möglich, daß sich saure, neutrale und/oder basische Salze 25 bilden. Alle diese möglichen Salze und ihre Gemische untereinander sind in der Definition "Flavanoidphosphate von Aminoglykosidantibiotika" eingeschlossen.
- 30 Bevorzugt sind die neutralen Salze und diese enthaltende Gemische; im Fall der Gentamycin-hesperidinphosphate ist z.B. besonders bevorzugt das Salz (Gemisch) aus 2 Mol Gentamycin und 5 Mol Hesperidinphosphorsäure. ("Neutral" bedeutet hier, daß auf jeden Phosphorsäure-rest eine basische Aminogruppe entfällt).

- 7 -

0065123

Gegenstand der Erfindung ist auch ein Verfahren zur Herstellung von Flavanoidphosphaten von Aminoglykosidantibiotika, dadurch gekennzeichnet, daß man ein wasserlösliches Salz eines Aminoglykosidantibiotikums mit einem Flavanoidphosphat oder einem seiner wasserlöslichen Säle umsetzt.

Diese Herstellung erfolgt in an sich bekannter Weise, etwa durch Zusammengeben einer wässrigen Lösung des wasserlöslichen Salzes des Antibiotikums (z.B. Gentamycininsulfat) mit einer wässrigen Lösung des Flavanoidphosphats oder eines seiner wasserlöslichen Salze (z.B. des Dinatriumsalzes), zweckmäßig unter Rühren bei Raumtemperatur. Zur Verbesserung der Löslichkeit kann auch ein organisches Lösungsmittel zugesetzt werden, z.B. ein Alkohol wie Ethanol. Die gebildeten Flavanoidphosphate sind in Wasser schwer löslich und können durch Abfiltrieren, Waschen mit Wasser und Trocknen erhalten werden.

Gegenstand der Erfindung ist ferner die Verwendung der genannten Flavanoidphosphate zur Herstellung pharmazeutischer Zubereitungen, insbesondere auf nicht-chemischem Wege. Hierbei können sie zusammen mit mindestens einem festen, flüssigen oder halbflüssigen Träger- oder Hilfsstoff und gegebenenfalls in Kombination mit einem oder mehreren weiteren Wirkstoff(en) in eine geeignete Dosierungsform gebracht werden.

Gegenstand der Erfindung sind ferner Mittel, insbesondere pharmazeutische Zubereitungen, enthaltend mindestens ein Flavanoidphosphat eines Aminoglykosidantibiotikums.

- 8 -

0065123

Diese Zubereitungen können als Arzneimittel in der Human- oder Veterinärmedizin verwendet werden. Als Trägerstoffe kommen organische oder anorganische Substanzen in Frage, die sich für die enterale (z.B. orale),
5 parenterale oder topische Applikation eignen und mit den neuen Verbindungen nicht reagieren, beispielsweise Wasser, pflanzliche Öle, Benzylalkohole, Polyethylen-glykole, Glycerintriacetat, Gelatine, Kohlehydrate wie Lactose oder Stärke, Magnesiumstearat, Talk, Vaseline.
10 Zur oralen Anwendung dienen insbesondere Tabletten, Dragees, Kapseln, Sirupe, Säfte oder Tropfen, zur rektalen Anwendung Suppositorien, zur parenteralen Anwendung Lösungen, Suspensionen, Emulsionen oder Implantate, für die topische Anwendung Salben, Cremes oder Puder.
15 Implantate, beispielsweise auf der Basis von Silikon-kautschuk, Tricalciumphosphat oder Kollagen, die sich z.B. zur Behandlung des infizierten Knochens eignen, sind von besonderer Bedeutung. Die neuen Verbindungen können auch lyophilisiert und die erhaltenen Lyophili-
20 sate z.B. zur Herstellung von Injektionspräparaten verwendet werden. Die angegebene Zubereitungen können sterilisiert sein und/oder Hilfsstoffe wie Gleit-, Konservierungs-, Stabilisierungs- und/oder Netzmittel, Emulgatoren, Salze zur Beeinflussung des osmotischen Druckes, Puffersubstanzen, Farb-, Geschmacks- und/oder Aromastoffe enthalten. Sie können, falls erwünscht, auch einen oder mehrere weitere Wirkstoffe enthalten, z.B. leicht lösliche Salze der gleichen oder anderer Antibiotika, um zusätzlich zu dem Depot-Effekt, der
25 durch die Flavanoidphosphate bewirkt wird, eine systemische Wirkung zu erzielen.
30

- 9 -

0065123

Insbesondere ist Gegenstand der Erfindung ein neues Fibrin-Antibiotikum-Gel, das mindestens ein Flavanoidphosphat eines Aminoglykosidantibiotikums enthält.

- 5 Fibrin-Antibiotikum-Gele, die als Antibiotikum Tobramycin, Gentamycin und/oder eines ihrer physiologisch unbedenklichen Salze enthalten, sind aus der Internationalen Patent anmeldung WO 81/00516 bekannt. Als physiologisch unbedenkliche Salze der beiden Antibiotika sind dort spezifisch nur die Sulfate genannt. Diese bekannten
- 10 Fibrin-Antibiotikum-Gele, die Tobramycinsulfat oder Gentamycinsulfat enthalten, zeigen jedoch bei der praktischen Anwendung, z.B. bei der Behandlung des infizierten Knochens, den Nachteil, daß die Antibiotika zu schnell aus ihnen freigesetzt werden. Die Antibiotika verteilen sich im Körper und werden zum Teil ausgeschieden; sie können dann an der eigentlichen Infektionsstelle nicht mehr in dem gewünschten Maße wirksam werden. Das neue Fibrin-Antibiotikum-Gel zeigt diese nachteiligen Eigenschaften der bekannten Gele nicht oder nur in geringerem Ausmaß.
- 15 Zur Herstellung der Fibrin-Antibiotikum-Gele können die Gentamycinsalze in der so erhaltenen Form oder aber in feinverteilter, z.B. mikronisierter Form eingesetzt werden.
- 20 Die Fibrin-Antibiotikum-Gele können in an sich bekannter Weise hergestellt werden, zweckmäßig durch Mischen einer Fibrinogenlösung, einer Thrombinlösung und des neuen Flavanoidphosphats eines Aminoglykosidantibiotikums. Das Fibrin wird dabei ausgefällt. Die Thrombinlösung enthält zweckmäßig zusätzlich Aprotinin und/ oder ist mit Calcium-Ionen angereichert, z.B. in Form von CaCl_2 . Außer den Flavanoidphosphaten werden alle Bestandteile des Gels zweckmäßig in Form

- 18 -

0065123

üblicher Handelspräparate verwendet. Es ist möglich,
das Gel erst am Ort der Wahl, z.B. unmittelbar in der
Knochenhöhle durch Zusatz der Thrombinlösung zu der
Fibrinogenlösung zu bilden, wobei das Salz des Anti-
5 biotikums vorher entweder der Thrombinlösung oder der
Fibrinogenlösung zugesetzt wird. Bevorzugt wird das
Gel aber durch extrakorporale Mischung der Bestandtei-
le hergestellt. In beiden Fällen kann man den Gerin-
nungsvorgang des Fibrins zeitlich steuern, indem man
10 die Konzentration des Thrombins verändert.

Das Fibrinogen kann z.B. als humanes Fibrinogen in
Form eines handelsüblichen Kryopräzipitats verwendet
werden, das etwa 90 mg/ml thrombinfällbares Protein
enthält, oder als Lyophilisat, z.B. aus menschlichem
15 Blut von gepooltem Spenderplasma gewonnen. Das Fibrin-
Antibiotikum-Gel enthält zweckmäßig etwa 2 bis etwa 10,
vorzugsweise etwa 3 bis 6, Gewichtsprozent Fibrin.

Die Thrombinlösung wird zweckmäßig hergestellt, indem
man Thrombin (z.B. in Form eines Pulvers) in einer
20 wässrigen Calciumchlorid-Lösung auflöst. Diese kann
z.B. 1000 bis 10000 KIE (Kallikrein-Inaktivator-Ein-
heiten), vorzugsweise etwa 3000 KIE Aprotinin pro ml
enthalten. Die Konzentration an Calciumchlorid beträgt
vorzugsweise etwa 20 bis 60, insbesondere etwa 40,
25 mMol/l. Die Konzentration des Thrombins liegt vorzugs-
weise zwischen etwa 10 und etwa 500 NIH-Einheiten pro
ml. Man verwendet zur Herstellung des Gels zweckmäßig
etwa die gleichen Volumina Fibrinogenlösung und
Thrombinlösung.

- 11 -

0065123

Das Salz des Antibiotikums wird zweckmäßig in einer auf das Körpergewicht bezogenen Menge eingesetzt, wobei die Tageshöchstdosis beachtet werden sollte.

5 Die Konzentration des Antibiotikums in dem Fibrin-Antibiotikum-Gel liegt vorzugsweise zwischen etwa 0,5 und etwa 10, insbesondere zwischen 1 und 5 Gewichtsprozent, bezogen auf die Base des Aminoglykosidantibiotikums.

10 Die Gerinnungszeit des Gels hängt von der Thrombin-Konzentration ab. So kann man die plastische Verformbarkeit des entstehenden Gerinnsels für die Dauer von 1/2 bis 1 Minute aufrechterhalten, wenn man eine Thrombin-Konzentration von etwa 150 NIH-Einheiten pro ml verwendet. Die Fließeigenschaften des Gels 15 werden durch niedrigere Thrombinkonzentration (10 - 15 NIH-Einheiten/ml) wesentlich länger aufrechterhalten (etwa bis zu 3 Minuten). Die Fibringerinnung wird dadurch verlangsamt, die Reißfestigkeit des Polymerisats eher erhöht.

20 Außer den erfindungsgemäß verwendbaren Salzen können in den Gelen zusätzlich noch andere physiologisch unbedenkliche Gentamycinsalze, z.B. das Sulfat, oder Gentamycin-Base enthalten sein, ferner auch andere Antibiotika, wie Tobramycin, Neomycin, Streptomycin, Penicilline, Bacitracin, Clindamycin und/oder 25 deren physiologisch unbedenklichen Salze. Die Gele können auch weitere Wirkstoffe enthalten.

30 Das Fibrin-Antibiotikum-Gel bei primärer Spongiosaplastik beherrscht nicht nur den Infekt, sondern verbessert auch die osteogenetische Potenz des biologischen Implantates.

- 12 -

0065123

Es ist natürlich möglich, auch infektgefährdete Knochen,
z.B. nach offenen Frakturen, zur Infektionsverhütung mit
dem Fibrin-Antibiotikum-Gel zu behandeln. Dabei wird
durch die speziellen Gentamycinsalze ein besonders hoher
5 lokaler Wirkstoff-Spiegel erzielt.

Die verzögerte Freisetzung des Antibiotikums aus den
erfindungsgemäßen Fibrin-Antibiotikum-Gelen kann im
Vergleich zu der Freisetzung aus mit Gentamycinsulfat
erhaltenen Gelen in an sich bekannter Weise nachgewiesen
10 werden, wobei man das freigesetzte Gentamycin vorzugs-
weise mikrobiologisch bestimmt. Diese Bestimmung kann

15 in vitro erfolgen, z.B. durch Elution in wässriger
Pufferlösung oder tierischem oder menschlichem Serum.
Es kann auch nach Implantierung des Gels in vivo oder
nach erfolgter Knochen-Operation die Ausscheidungsge-
schwindigkeit im Urin oder die zeitliche Veränderung
der Konzentration im Serum oder in Geweben in der
gleichen Weise bestimmt werden. In-vivo-Versuche
können an beliebigen Versuchstieren, z.B. Ratten,
20 Kaninchen oder Hunden, oder am Menschen vorgenommen
werden.

25 Gegenstand der Erfindung ist ferner die Verwendung der
genannten Flavanoidphosphate bei der Bekämpfung von
Krankheiten, insbesondere von bakteriellen Infektionen,
sowie ihre Verwendung bei der therapeutischen Behand-
lung des menschlichen oder tierischen Körpers.

- 13 -

0065123

Dabei werden die erfindungsgemäßen Substanzen vorzugsweise in Dosierungen zwischen etwa 5 und 1000 mg, insbesondere zwischen 10 und 500 mg pro Dosierungseinheit (bezogen auf Antibiotikum-Wirkstoff) verabreicht. Die spezielle Dosis für jeden bestimmten Patienten hängt jedoch von den verschiedensten Faktoren ab, beispielsweise von der Wirksamkeit der eingesetzten speziellen Verbindung, vom Alter, Körpergewicht, allgemeinem Gesundheitszustand, Geschlecht, von der Kost, vom Verabfolgungszeitpunkt und -weg, von der Ausscheidungsgeschwindigkeit, Arzneistoffkombination und Schwere der jeweiligen Erkrankung, welcher die Therapie gilt. Die lokale Applikation ist bevorzugt.

In den nachfolgenden Beispielen sind die Temperaturen in °C angegeben.

Beispiel 1

Eine Lösung von 7,07 g (10 mMol) Gentamycinsulfat in 200 ml Wasser wird bei 20° unter Rühren mit einer Lösung von 20,4 g (25 mMol) Hesperidin-5,3'-diphosphorsäureester-dinatriumsalz in 600 ml Wasser versetzt.

Man röhrt noch eine Stunde, saugt das erhaltene Gentamycin-hesperidinphosphat (Gentamycin . 2,5 Hesperidinphosphat) ab, wäscht mit Wasser nach und trocknet über KOH. F. 227 - 229° (Zersetzung);
IR-Spektrum (in KBr): 3410, 2950, 1637, 1572, 1510, 25 1440 cm⁻¹.

- 14 -

0065123

Beispiele 2 bis 8

Analog Beispiel 1 erhält man aus den berechneten Mengen der Sulfate der entsprechenden Antibiotika und Hesperidin-5,3'-diphosphorsäureester-dinatrium-
5 salz:

2. Neomycin-hesperidinphosphat (= Neomycin . 3 Hesperi-dinphosphat), F. 228 - 230° (Zersetzung).
3. Paromomycin-hesperidinphosphat (= Paromomycin . 2,5 Hesperi-dinphosphat), F. 219 - 222° (Zersetzung).
- 10 4. Sisomycin-hesperidinphosphat (= Sisomycin . 2,5 Hesperi-dinphosphat), F. 220 - 221° (Zersetzung).
5. Amikacin-hesperidinphosphat (= Amikacin . 2 Hesperi-dinphosphat), F. 226 - 229° (Zersetzung).
- 15 6. Tobramycin-hesperidinphosphat (= Tobramycin . 2,5 Hesperi-dinphosphat), F. 228° (Zersetzung).
7. Dibekacin-hesperidinphosphat (= Dibekacin . 2,5 Hesperi-dinphosphat), F. 230° (Zersetzung).
8. Streptomycin-hesperidinphosphat (= Streptomycin . 3 Hesperi-dinphosphat), F. 212 - 213° (Zersetzung).

20 Beispiel 9

Eine Lösung von 7,07 g Gentamycinsulfat in 200 ml Wasser wird bei 20° unter Rühren zu einer Lösung von 17,5 g (50 mMol) 6-Hydroxy-4'-methoxy-flavanon-6-phosphorsäure-ester in 150 ml Ethanol und 1600 ml Wasser gegeben. Man röhrt noch eine Stunde, saugt das erhaltene Gentamycin-
25 salz des 6-Hydroxy-4'-methoxy-flavanon-6-phosphorsäure-esters ab, wäscht mit Wasser nach und trocknet über KOH. F. 210 - 215° (Sintern bei 190°).

15-

0065123

Die nachstehenden Beispiele betreffen pharmazeutische Zubereitungen, die Hesperidinphosphate von Aminoglykosidantibiotika enthalten:

Beispiel A: Kapseln

- 5 Man füllt 10 kg Neomycin-hesperidinphosphat in üblicher Weise in Hartgelatinekapseln, so daß jede Kapsel Wirkstoff entsprechend 165 mg Neomycin-Base enthält.

Beispiel B: Ampullen

- 10 Man mikronisiert 1 kg Gentamycin-hesperidinphosphat fein, suspendiert in 30 l Sesamöl und füllt in Ampullen ab, die unter sterilen Bedingungen verschlossen werden. Jede Ampulle enthält Wirkstoff entsprechend 10 (40, 80, 120) mg Gentamycin-Base.

Beispiel C: Implantate

- 15 Man mischt 1,54 g mikronisiertes Gentamycin-hesperidinphosphat (entsprechend 0,2 g Gentamycin) mit 8,5 g Silikonkautschuk-Monomerem (Medical Grade Silastic 382, Dow Corning), gibt 2 Tropfen Polymerisationskatalysator hinzu, mischt erneut und formt zu runden Scheiben von
20 20 mm Durchmesser und 1 mm Dicke. Jede Scheibe enthält 6 mg Gentamycin-Base.

- 16 -

0065123

Beispiel D:

Fibrin-Antibiotikum-Gel

Man löst 4 NIH-Einheiten Thrombin (Handelspräparat) in 1 ml Aprotinin-Calciumchlorid-Lösung (Handelspräparat; 3000 KIE/ml Aprotinin in 40 mMol/l CaCl₂) erwärmt die Lösung auf 37°, gibt eine Menge Gentamycin-hesperidin-phosphat, die 20 mg Gentamycin-Base entspricht, hinzu und mischt mit der gleichen Menge vorher auf 37° erwärmten "Fibrinkleber" (Handelspräparat; hergestellt durch Kältepräzipitation aus humanem Spendersona; bei -18° oder kälter gelagert; 1 ml der Lösung enthält durchschnittlich 90 mg thrombinfällbares Protein, Gesamteiweißgehalt der Lösung etwa 10 Gewichtsprozent; etwa 20 - 30 Minuten vor der geplanten Verwendung aufgetaut). Man lässt das Gemisch in Zylindern aus rostfreiem Stahl (Innendurchmesser 6 mm, Höhe 10 mm) erstarren (1 ml für 3 Zylinder). Die gebildeten Gel-Zylinder werden anschließend aus den Formen ausgestoßen.

0065123

Merck Patent Gesellschaft
mit beschränkter Haftung
D a r m s t a d t

Patentansprüche:

1. Flavanoidphosphate von Aminoglykosidantibiotika.
2. Hesperidinphosphate von Aminoglykosidantibiotika.
3. Gentamycin-hesperidinphosphat.
4. a) Neomycin-hesperidinphosphat.
b) Paromomycin-hesperidinphosphat.
c) Sisomycin-hesperidinphosphat.
d) Amikacin-hesperidinphosphat.
e) Tobramycin-hesperidinphosphat.
f) Dibekacin-hesperidinphosphat.
g) Streptomycin-hesperidinphosphat.

- 2 -

0065123

5. Verfahren zur Herstellung von Flavanoidphosphaten von Aminoglykosidantibiotika, dadurch gekennzeichnet, daß man ein wasserlösliches Salz eines Aminoglykosidantibiotikums mit einem Flavanoidphosphat oder einem seiner wasserlöslichen Salze umsetzt.
6. Verfahren zur Herstellung pharmazeutischer Zubereitungen, dadurch gekennzeichnet, daß man ein Flavanoidphosphat eines Aminoglykosidantibiotikums zusammen mit mindestens einem festen, flüssigen oder halbflüssigen Träger- oder Hilfsstoff und gegebenenfalls in Kombination mit einem oder mehreren weiteren Wirkstoff(en) in eine geeignete Dosierungsform bringt.
7. Pharmazeutische Zubereitung, gekennzeichnet durch einen Gehalt an mindestens einem Flavanoidphosphat eines Aminoglykosidantibiotikums.
8. Fibrin-Antibiotikum-Gel mit einem Gehalt an mindestens einem Flavanoidphosphat eines Aminoglykosidantibiotikums.
9. Flavanoidphosphate von Aminoglykosidantibiotika zur Bekämpfung von Krankheiten.
10. Verwendung von Flavanoidphosphaten von Aminoglykosidantibiotika bei der Bekämpfung von Krankheiten.



EUROPÄISCHER RECHERCHENBERICHT

0065123
Nummer der Anmeldung

EP 82 10 3471

EINSCHLÄGIGE DOKUMENTE			
Kategorie	Kennzeichnung des Dokuments mit Angabe, soweit erforderlich, der maßgeblichen Teile	Betrifft Anspruch	KLASSIFIKATION DER ANMELDUNG (Int. Cl. *)
A	<p>CHEMICAL ABSTRACTS, Band 87, Nr. 21, 21. November 1977, Seite 4, Nr. 161337b, Columbus Ohio (USA);</p> <p>J.F.BURD et al.: "Homogeneous reactant-labeled fluorescent immunoassay for therapeutic drugs exemplified by gentamicin determination in human serum". & CLIN. CHEM. (WINSTON-SALEM, N.C.) 1977, 23(8), 1402-8. *Zusammenfassung*</p> <p>---</p> <p>US-A-3 091 572 (G.M.LUEDEMALN) *Spalten 11-12; Spalte 14, Zeilen 50-75*</p> <p>-----</p>	1	C 07 H 15/20 C 07 H 17/06 A 61 K 31/70
D, A		1	RECHERCHIERTE SACHGEBIETE (Int. Cl. *)
Der vorliegende Recherchenbericht wurde für alle Patentansprüche erstellt.			
Recherchenort DEN HAAG	Abschlußdatum der Recherche 20-08-1982	Prüfer VERHULST W.	
KATEGORIE DER GENANNTEN DOKUMENTEN X : von besonderer Bedeutung allein betrachtet Y : von besonderer Bedeutung in Verbindung mit einer anderen Veröffentlichung derselben Kategorie A : technologischer Hintergrund O : nichtschriftliche Offenbarung P : Zwischenliteratur T : der Erfindung zugrunde liegende Theorien oder Grundsätze		E : älteres Patentdokument, das jedoch erst am oder nach dem Anmeldedatum veröffentlicht worden ist D : in der Anmeldung angeführtes Dokument L : aus andern Gründen angeführtes Dokument & : Mitglied der gleichen Patentfamilie, übereinstimmendes Dokument	